

Bírálat

Kóbori László:

„A transzplantált májgraft optimális artériás vérellátásától a CYP enzim monitorizálásáig” c.
MTA doktori értekezéséről.

A májtranszplantáció a végstádiumú vagy súlyos akut májelégtelenségben szendő betegek egyetlen gyógyítási lehetősége. Ugyanakkor a transzplantációs igény egyre nagyobb, a rendelkezésre álló donorszám pedig korlátozott. Kulcsfontosságú ezért a műtét sikeressége, a májgraft és ezzel együtt a recipiens minél nagyobb arányú, hosszútávú túlélése.

A Jelölt a májtranszplantáltak *túlélési esélyeit rontó tényezők kiküszöbölését* célzó eljárások lehetőségeit vizsgálta. Doktori értekezése a májgraft ideális vérellátását, a thrombosiskockázat csökkentését, és a reperfúziós károsodás minimalizálását szolgáló módszerekről, kísérletes sebészeti és anatómiai vizsgálatokról, az oxidatív stressz valamint a gyógyszermetabolizációban jelentős P450 enzimszisztéma monitorozásáról, 23 év transzplantációs klinikai tapasztalatairól, elméleti kutatókkal való együttműködésben folytatott tudományos munkáról szól.

A pályázat 129 gépelt oldal szöveges részt, 35 ábrát, 12 táblázatot és 308 irodalmi hivatkozást tartalmaz. Az értekezés jól áttekinthető szerkezetű, logikus felépítésű, 10 fő részre oszlik, (bevezetés, irodalmi háttér, célkitűzések, anyagok és módszerek, eredmények, megbeszélés, következtetések, új megállapítások, összefoglalás, irodalom).

Az MTA doktori pályázat formai követelményeinek megfelel, gondosan kivitelezett munka.

A *Bevezetés*ben összefoglalja májtranszplantáció kimenetelét meghatározó legfontosabb tényezőket, amelyek a fent említettek szerint a jelen kutatás tárgyát is képezték.

Az értekezésben szereplő témakörök *irodalmi háttérét* áttekintő 35 oldalas fejezet értékes része a disszertációnak. Ebben megvilágítja a graft-túlélést befolyásoló faktorokat, az optimális artériás vérellátás, a reperfúzió és az oxidatív stressz, valamint a portális hipertenzióban a hiperkinetikus lépkeringés szerepét, a májsebészeti anatómia ismeretének fontosságát, és a citokróm P450 enzim szisztéma monitorozás jelentőségét a májtranszplantált betegek ellátásában.

A 4. fejezetben *célkitűzéseit 8 pontban* sorolja fel, a megválaszolandó fő kérdések az alábbiakban foglalhatók össze:

1. mennyire befolyásolja a májgraft működését az artériás vérellátás és az oxidatív stressz viszonya,
2. mi jellemző a portális hipertenzióban uralkodó artériás viszonyokra és mi a jelentősége lépartéria aneurizmáknak,
3. milyen az ideális érgraft májtranszplantáció esetén és mi a teendő az oxidatív stressz csökkentése és az artériás szövődmény megelőzése érdekében
4. milyen gyakoriak a hazai donor poulációban a májartéria variánsok,
5. prospektív szűrés alapján kívánta vizsgálni a májgraft gyógyszermetabolizáló képességének, a hazai cadaver donorok enzim fenotípusok megoszlását,
6. gyakorlati alkalmazhatóság céljából meghatározni a máj gyógyszermetabolizáló kapacitásának, az enzimaktivitásnak és leukocita P450 gén mRNS expressziójának korrelációját,
7. megállapítani az CYP enzimszűrések előnyét az optimális immunszuppresszív kezelés érdekében,
8. megvizsgálni a fentiek tükrében a hazai májátültetés fejlődését.

Az 5. fejezetben a *Betegek és módszerek* leírása 17 oldalon található. A Jelölt munkahelyén 1995-2018 között 963 májbeteget transzplantáltak. Ezen kívül, a máj és lép artériás vérellátásának tanulmányozásával kapcsolatban még 337 holland transzplantált dokumentációját is elemezték. Az egyes metodikákban *eltérő betegszámok* fordulnak elő, így az oxidatív stressz (mieloperoxidáz, MPO) mérésekben 32 beteg, a portális hipertenzióban végzett keringés-vizsgálatokban az említett hollandiai anyagon kívül 150 hazai transzplantált szerepelt, a sebészeti anatómiai korróziós vizsgálatokban részletesen 50 preparátumot elemezték, P450 microsomalis enzimek aktivitását és génexpresszióját 164 donor májban határozták meg. Az autolog érgraft kísérletekhez kutyákat használtak.

A módszereket (6. fejezet) illetően az oxidatív stressz mutatójaként ELISA technikával a vér MPO aktivitását mérték, az artériás lépkeringést CT angiográfiával, az anatómiai variánsokat korróziós technikával vizsgálták, az állatkísérleteket peritoneummal fedett m. rectus belső fasciájával képzett tubularis érgrafttal végezték, a P450 enzimek metabolizáló aktivitását különböző szubsztátokkal mérték a májban és leukocytákban, P450 genotípus és fenotípus meghatározásokat folytattak, a P450 gén expresszió vizsgálatokhoz kvantitatív real time PCR-t alkalmaztak.

Az eredményeket (7. fejezetben) 32 oldalon ismerteti. A vér MPO szintek alapján követte a recipiensekben a fokozott oxidatív stressz változásait. Megállapította, hogy a májban a normális artériás anatómia előfordulása 42%-os, a lép artéria-aneurizma gyakorisága 10% körüli. Érgraft kísérletekben hosszútávon életképes autolog érpoztási technikát dolgozott ki. A graft túlélését kockázatos gyógyszer-toxicitás megelőzésére olyan eljárást vezetett be, amely perifériás vérmintából 24 óra alatt eredményt ad a P450 CYP fenotípusra, a máj gyógyszer-metabolizáló enzimaktivitásra vonatkozóan.

Az ábrák és táblázatok egységes sorszámozásának hiánya kifogásolható.

A megbeszélés (22 oldalon) tárgyalja a megfigyelések elméleti és gyakorlati jelentőségét, kezdve az oxidatív stressz, a szabad gyökök, a reperfüziós károsodás kérdéséről az ideális artériás anasztomózisig, érintve a léparteria elváltozások kezelésének algoritmusát, a májartéria variánsok ismeretének fontosságát, és az autológ érpoztás lehetőségének kísérletes vizsgálatát. Részletezi, hogy a gyógyszer-metabolizációban szereplő P450 citokróm enzim vizsgálata, és a kifejlesztett gyors fenotipizálási eljárás segíti az optimális immunszuppresszív kezelés beállítását, védve a recipienst a gyógyszer-toxicitástól.

A Tézisek és következtetések után az új megállapításokat 3 pontban foglalta össze. Ezzel is összhangban, az értekezés új tudományos eredményének az alábbi tézisek fogadhatók el:

1. A máj graft túlélését meghatározó optimális artériás vérellátás biztosításához fontos portalis hipertenzióban a *speciális artériás keringési viszonyok ismerete*. Ennek alapján olyan technikai megoldások szükségesek, amelyek az arteria hepatica nyomás javítását, hyperkinetikus lienalis keringés csökkentését, és a léparteria aneurizma megelőzését szolgálják. A hazai gyakorlatban a 963 májtranszplantáció kapcsán lépaneurizma ruptura nem fordult elő.
2. A máj sebészeti anatómiájának korróziós technikával végzett vizsgálata szerint normális artériás anatómia az esetek 42%-ában van jelen, és 18%-ban fordulnak elő olyan érvariációk amelyek nem szerepelnek az ismert klasszifikációban. Mivel az artériás vérellátás biztosításához bizonyos esetekben érpoztásra lehet szükség, állatkísérletek alapján peritoneummal fedett rectus fascia felhasználásával olyan autolog tubularis érgraftot készíthető, amely hosszútávon is működő-képesnek bizonyult. A technika egy esetben a kliniai gyakorlatban is bevált, sikeres érrekonstrukciót tett lehetővé.
3. A gyógyszer-toxicitás okozta graft károsodás jelentősen megelőzhető a *P450 CYP rendszer gyógyszer-metabolizáló* funkciójának ismerete alapján végzett *személyre szabott* immunszuppresszív terápiával. Ehhez, miután megállapítható volt az összefüggés a máj P450 CYP enzimaktivitása és perifériás vér fehérvérsejtek P450 mRNS expressziója között, a gyakorlatban használható, 24 órán belül eredményt adó gyors eljárást fejlesztettek ki a donor máj P450 gyógyszer-metabolizáló aktivitásának megítélésére.

Megjegyzések és kérdések:

1. Az oxidatív stressz súlyosabb formái esetén, az említett sebészeti intervenciók (vérellátás biztosítása) mellett antioxidáns farmakoterápiás lehetőségként nem vetődik-e fel *N-acetyl-cystein* alkalmazása?

2. Az arteriás thrombosis létrejöttében szereplő keringési tényezők, anatómiai variánsok vagy infekció mellett említést érdemel, hogy cirrhosisban a véralvadás labilis egysúlya a thrombosis irányában tolódott el. Ennek ismeretében gyanú esetén nem lenne-e célszerű a hemostasis vizsgálata, pl. thrombelasztogrammal, és szükség szerint *anti-thrombotikus gyógyszeres profilaxis*?
3. Van-e adat a thrombosis eltérő gyakoriságára a cirrhotikus és a nem cirrhotikus májakban?
4. A portális hypertenzió fontos a lienalis keringészavarok kialakulásában, splenomegáliában és a léparteria aneurizmák képződésében. A speciális arteriás keringési viszonyok ismeretében végzett célzott sebészeti beavatkozások csökkentik a szövődmények kockázatát. Ezen túlmenően azonban nem *vetődhet-e fel a súlyos portális hypertenzió farmakológiai befolyásolása is?*
5. Mit tudunk a léparteria aneurizma képződés pontos mechanizmusáról?
6. Extrém portális hypertenzióban az új máj artériás vérellátásának biztosításánál mi lehet az optimális sebészi megoldás?
7. Az immunszuppresszióval kapcsolatos gyógyszertoxicitás gyakoriságáról vannak-e adatok a rutinszerűen végzett P450 CYP vizsgálatok *előtti* és *az utáni* időszakban?
8. A májtranszplantáció terén elért fejlődést illetően néhány kérdés olyan belgyógyász-hepatológus szemszögéből, akinek számos betege a hazai májtranszplantációnak köszönheti gyógyulását:
 - a) Ma a várólista időtartama átlag 222 nap, és 85% körüli a 3 éves túlélés. *10 évvel ezelőtt hogy alakultak ezek az adatok?*
 - b) *Milyen arányban alkalmasak a donor májak,* van-e változás a 10 évvel ezelőttihez képest, - észlelhető-e a metabolikus szindróma (elhízás, diabetes, zsírmáj) - epidémia (kedvezőtlen) hatása?
 - c) *Milyen marginális graftokat* használnak újabban, milyen eredménnyel?

Összefoglalva,

A doktori pályázatra benyújtott munka gondosan tervezett és kivitelezett, széleskörű tudományos együttműködések eredményeit tartalmazza, eredeti megfigyelésekkel, értékes irodalmi diszkusszióval. Az értekezés sok ismerettel gazdagította tudásunkat a májtranszplantáció kimenetelét meghatározó legfontosabb körülményekről, a graft és a recipiens túlélési esélyeit rontó tényezők kiküszöbölésének lehetőségeiről, és nagyban hozzájárult a hazai májtranszplantáció eredményességének javulásához.

A Jelöltnek a PhD megszerzése óta eltelt időben végzett munkássága, a kapott adatok és azok publikálása színvonalas nemzetközi folyóiratokban, jelentős eredménnyel gyarapították a tudomány-szakot, hozzájárultak a tudomány továbbfejlődéséhez. Mindez indokoltá teszi a kérelmet az MTA doktori cím elnyerésére.

Javasolom az értekezés nyilvános vitára bocsátását és a Jelölt számára a doktori cím odaitélését.

Pécs, 2019. július 5.

Pár Alajos
az MTA doktora